

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH  
TERHADAP PROFIL KANDUNGAN KIMIA BAGIAN  
DAUN DARI TANAMAN SALAM  
(*Syzygium polyanthum*) ASAL SULAWESI  
SELATAN**

**THE EFFECT OF THE GROWT  
ENVIRONMENT ON CHEMICAL CONTENT  
OF *BAY LEAF* (*Syzygium polyanthum*)  
FROM SOUTH SULAWESI**

**IRMA AL-VIANA  
N011171544**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**SKRIPSI**

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH  
TERHADAP PROFIL KANDUNGAN KIMIA BAGIAN  
DAUN DARI TANAMAN SALAM  
(*Syzygium polyanthum*) ASAL SULAWESI  
SELATAN**

**THE EFFECT OF THE GROWT  
ENVIRONMENT ON CHEMICAL CONTENT  
OF *BAY LEAF* (*Syzygium polyanthum*)  
FROM SOUTH SULAWESI**

Disusun dan diajukan oleh

**IRMA AL-VIANA**

**N011 17 154**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TERHADAP PROFIL  
KANDUNGAN KIMIA BAGIAN DAUN DARI TANAMAN SALAM  
(*Syzygium polyanthum*) ASAL SULAWESI SELATAN**

**THE EFFECT OF the GROWT Environment ON CHEMICAL  
CONTENT OF BAYLEAF (*Syzygium polyanthum*) from south  
sulawesi**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**IRMA AL-VIANA  
N011 17 1544**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TERHADAP PROFIL  
KANDUNGAN KIMIA BAGIAN DAUN DARI TANAMAN SALAM  
(*Syzygium polyanthum*) ASAL SULAWESI SELATAN

IRMA AL-VIANA  
N011 17 1544

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping



Prof. Subehan, M. Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19750925 200112 1 002



Ismail, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 198508052014041001

Pada tanggal 13 juli \_\_\_\_\_ 2023

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TERHADAP PROFIL  
KANDUNGAN KIMIA BAGIAN DAUN DARI TANAMAN SALAM  
(*Syzygium polyanthum*) DARI SULAWESI SELATAN**

**THE EFFECT OF THE GROWT Environment ON CHEMICAL  
CONTENT OF BAY LEAF (*Syzygium polyanthum*) FROM  
SOUTH SULAWESI**

Disusun dan diajukan oleh :

**IRMA AL-VIANA  
N011 17 1544**

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada Tanggal 13 juli 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping



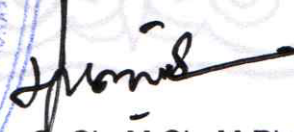
Prof. Subehan, M. Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19750925 200112 1 002



Ismail, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 198508052014041001



Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas  
Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S. Si., M.Si., M.Pharm.Sc, Ph.D., Apt  
NIP. 198660116 201012 2 009

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Irma Al-Viana

NIM : N011 17 1544

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya dengan judul Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Profil Kandungan Kimia Bagian Daun Dari Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*) asal sulawesi selatan adalah hasil karya tulisan saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari hasil tulisan saya ini terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 13 juli 2023

Yang Menyatakan



Irma Al-Viana

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa dan Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karna atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan. Berkat bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis dapat melewati berbagai macam kendala untuk menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof.Subehan, M. Pharm.Sc., Ph.D.,Apt. dan Ismail, S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing utama dan pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu serta memberikan ilmu dan arahan kepada penulis dalam pembuatan skripsi ini.
2. Dr. Risfah Yulianty, S.Si.,M.Si., Apt. dan Muhammad Raihan,S.Si., Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan yang membangun dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Dekan dan Wakil Dekan, staf dosen, laboran, dan tenaga kependidikan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu, motivasi, dan segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi di Fakultas Farmasi.
4. Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt selaku dosen penasehat akademik yang telah memberikan banyak nasehat dan arahan selama penulis menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

5. Teman-teman Asrama yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis terkhususnya pada awal peneitian ini dilakukan serta terus menemani di masa pandemi.
6. Teman-teman penelitian yang telah memberikan semangat, dukungan, dan saran selama penulis melaksanakan penelitian hingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-teman Netijen +62 yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis dari awal perkuliahan hingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik, terkhususnya kepada Khairunnisa, Umilevina Amry, Mastika Kamaruddin, Nur Hafida, dan A. Dhea Aulia Syam yang terus menemani penulis selama melakukan bimbingan skripsi serta memberikan masukan dalam pembuatan skripsi ini.
8. Semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini yang penulis tidak dapat menyebutkan namanya satu persatu.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua penulis Ayahanda Sabang dan Ibunda Samsiah yang telah memberikan dukungan moril dan materil, kasih sayang, serta doa yang tiada henti agar penulis dapat menjadi manusia yang lebih baik lagi. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan tanggapan dan saranyang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin Yarabbal Alamin.

Makassar, 13 juli 2023



Irma Al-Viana



## ABSTRAK

**IRMA AL-VIANA.** *Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Profil Kandungan Kimia Bagian Daun Salam Pada Tanaman Daun Salam (Syzygium Polyanthum) asal Sulawesi Selatan (dibimbing oleh Prof.Subehan, dan Ismail)*

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki kondisi geografis bervariasi misalnya Sulawesi Selatan, dimana pada daerah tersebut banyak terdapat berbagai jenis tumbuhan obat salah satunya yaitu tanaman salam. Merupakan tempat tumbuh berbagai macam tumbuhan obat, salah satunya adalah tanaman Salam. Tanaman ini telah digunakan dan dimanfaatkan sebagai bahan obat atau bahan bumbu dapur. Berdasarkan hal tersebut dilakukanlah penelitian Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Profil Kandungan Kimia Bagian Daun Salam Pada Tanaman Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) asal Sulawesi Selatan. Sampel pada penelitian ini diambil dari tiga lokasi yaitu toraja, palopo, dan Gowa dengan ketinggian masing-masing 792, 41 dan 42 mdpl. Setelahnya masing-masing sampel diolah, diekstraksi dengan Etanol 96% dan dilakukan berbagai pengujian. Dari penelitian diperoleh hasil positif untuk uji identifikasi kandungan senyawa kimia telah didapatkan hasil positif senyawa saponin, flavonoid, fenol dan steroid sedangkan senyawa alkaloid didapatkan hasil negative. Dan untuk penentuan Kandungan Total Flavonoid menggunakan metode Spektrofotometri diperoleh hasil masing-masing dari tiga lokasi yaitu toraja dengan nilai 3,720 µg/mg, palopo dengan nilai 4,614 µg/mg, dan gowa dengan nilai 2,052 µg/mg dapat disimpulkan nilai terbesar kandungan total flavonoid dari daerah palopo.

Kata Kunci : Salam, tempat tumbuh , favonoid

## ABSTRACT

**IRMA AL-VIANA.** *Effect of Growing Place Height on the Chemical Content Profile of Bay Leaf Plant (Syzygium Polyanthum) from South Sulawesi* (guided by Prof.Subehan, and Ismail)

Indonesia is a tropical country with varied geographic conditions, for example South Sulawesi, where there are many types of medicinal plants, one of which is the salam plant. It is a place where various kinds of medicinal plants grow, one of which is the Salam plant. This plant has been used and utilized as a medicinal ingredient or a spice in the kitchen. Based on this, a study was carried out on the Effect of Altitude of Growing Place on the Chemical Content Profile of Bay Leaves in Bay Leaf Plants (Syzygium Polyanthum) from South Sulawesi. The samples in this study were taken from three locations, namely Toraja, Palopo, and Gowa with a height of 792, 41 and 42 masl respectively. After that, each sample was processed, extracted with 96% ethanol and various tests were carried out. From this study, positive results were obtained for the identification test for chemical compound content, positive results were obtained for saponins, flavonoids, phenols and steroids, while for alkaloid compounds, negative results were obtained. And to determine the Total Flavonoid Content using the Spectrophotometric method, the results were obtained from three locations, namely Toraja with a value of 3.720 µg/mg, Palopo with a value of 4.614 µg/mg, and Gowa with a value of 2.052 µg/mg. It can be concluded that the largest value of the total flavonoid content of palopo area.

Keywords : Bay, Environment, flavonoid

## DAFTAR ISI

Isi	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	7
I.3 Tujuan Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
II.1 Daun Salam	8
II.1.1 Klasifikasi Daun Salam	9
II.1.2 Morfologi Daun Salam	9
II.1.3 Kandungan Kimia Daun Salam	10
II.1.4 Khasiat Daun Salam	10
II.2 Metode Ekstraksi	10
II.2.1 Definisi Ekstraksi	11
II.2.2 Tujuan Ekstraksi	12
II.2.3 Metode Ekstraksi	15

## DAFTAR ISI

II.3 Uraian Flavonoid	16
II.4 Kuersetin	18
II.5 Spektrofotometri Uv-Vis	18
BAB III METODE PENELITIAN	30
III.1 Alat dan Bahan	30
III.1.1 Alat	30
III.1.2 Bahan	30
III.2 Cara Kerja	30
III.3 Lokasi Penelitian dan Keadaan Umum Lokasi Penelitian	30
III.3.1 Lokasi Penelitian	30
III.3.2 Keadaan Umum Lokasi Penelitian	31
III.3.3 Determinasi Tanaman	31
III.3.4 Penyiapan Sampel dan Ekstrak Sampel	31
III.3.5 Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Daun Salam	32
III.3.5.1 Pembuatan Larutan Uji	32
III.3.5.2 Pemeriksaan Saponin	32
III.3.5.3 Pemeriksaan Flavonoid	33
III.3.5.4 Pemeriksaan Fenol	33
III.3.5.5 Pemeriksaan Alkaloid	33
III.3.5.6 Pemeriksaan Steroid	33
III.3.6 Penentuan Kandungan Total Flavonoid Dengan Ekstrak Daun Salam dan Etanol 96% dengan menggunakan Spektrofotometer Uv-Visible	33
III.3.6.1 Pembuatan Larutan Blangko	33
III.3.6.2 Penentuan Larutan Baku Kuersetin	34
III.3.6.3 Penentuan Blangko	34

## DAFTAR ISI

III.3.6.4 Penentuan Kadar Sampel	34
III.3.6.5 Penentuan Profil Kromatografi Lapis Tipis	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36
IV.1 Ekstraksi Daun Salam ( <i>Syzygium Polyanthum</i> [Wight] Walp).	36
IV.1.1 Hasil deteksi kandungan aktif ekstrak etanol daun salam ( <i>Syzygium Polyanthum</i> [Wight] Walp).	36
IV.1.2 Bahan Pembanding Dengan Menggunakan Kuersetin	36
IV.1.3 Profil Kromatografi Lapis Tipis	37
IV.2 Pembahasan	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	43
V.1 Kesimpulan	43
V.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	48

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil ekstraksi daun salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> [Wight] Walp ).	36
2. Hasil deteksi kandungan aktif uji tabung	36
3. Data standar blanko dan kuersetin	37

## DAFTAR LAMPIRAN

Gambar	halaman
1. Alat pengukur ketinggian ( <i>Sunroad</i> )	62
2. Tanaman daun salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> [Wight] Walp ).	62
3. Sampel daun salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> [Wight] Walp ).	62
4. Timbang simplisia kering daerah toraja, palopo dan gowa	63
5. Alat ayakan dan timbangan analitik	63
6. Alat <i>rotary evaporator</i>	63
7. Toples proses maserasi	63
8. Alat vakum untuk penyaringan	63
9. Penangas untuk diuapkan	63
10. Ekstrak kental daun salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> [Wight] Walp ).	64
11. Bahan pereaksi kimia atau reagen	64
12. Pembuatan uji identifikasi menggunakan tabung reaksi dan rak tabung	64
13. Alat labu takar buat pengenceran seri	65
14. Alat spektrofotometri UV-Vis	65
15. Uji KLT	66

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja pembuatan ekstrak daun salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> [Wight] Walp ).	48
2. Skema kerja identifikasi kandungan daun salam ( <i>Syzygium Polyanthum</i> [Wight] Walp ).	49
3. Skema kerja uji kualitatif dengan kromatografi lapis tipis	50
4. Skema kerja penentuan kurva baku kuersetin	51
5. Skema kerja penentuan blangko menggunakan spektrofotometer Uv-Vis	52
6. Skema kerja kandungan flavonoid total	53
7. Perhitungan	59
8. Tabel kurva standar blangko, kuersetin dan sampel	60
9. Kurva I maks kuersetin	61
10. Dokumentasi penelitian	66



# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Kondisi geografis Indonesia bervariasi, memiliki keragaman tempat tumbuh serta negara beriklim tropis yang menjadi pusat *megabiodiversity* tertinggi kedua di dunia. Salah satu pulau besar di Indonesia yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, unik dan bersifat endemik adalah pulau Sulawesi. Alasan utama yang menyebabkan pulau Sulawesi memiliki flora dan fauna yang unik dan bersifat endemik adalah pulau Sulawesi tidak pernah menyatu secara utuh dengan benua Asia dan Australia yang mengapitnya. (Hamidum dan Dewi, 2013).

Flora Sulawesi merupakan salah satu kekayaan alam yang cukup unik dan menarik. Keunikan ini tak terlepas dari pengaruh dua daratan benua yang dalam sejarahnya telah ikut membentuk pulau yang dikenal sebagai areal peralihan flora fauna. Jumlah jenis tumbuhan diperkirakan sekitar 5000 di Sulawesi dan terdapat 57 jenis tumbuhan yang hidup endemik di beberapa tempat diantaranya di propinsi Gorontalo ada 16 jenis, Sulawesi Utara 13 jenis, Sulawesi Tenggara 10 jenis, Sulawesi Tengah 9 jenis dan di Sulawesi Selatan 9 jenis (Butar butar, R. R. dan Soemarno, 2013).

Pertumbuhan dan perkembangan suatu tumbuhan (termasuk metabolit sekunder) sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, salah satunya ketinggian (Herlina, 2017 dan Evans WC, 2002). Penelitian terkait kadar flavonoid *Fragaria vesca* pada ketinggian 780 dan 1100 mdpl. Berdasarkan penelitian tersebut,

diperoleh hasil bahwa kadar flavonoid menurun dari dataran rendah ke dataran tinggi. Produksi dan mutu simplisia serta kandungan bahan aktif sangat ditentukan oleh ketinggian tempat tumbuh dan proses pengeringan pascapanen. Diperlukan penelitian mengenai tempat tumbuh dan jenis pengeringan yang tepat dalam produksi simplisia agar menghasilkan simplisia yang bermutu tinggi dan memenuhi standar yang telah ditentukan (Malnikova, 2013).

Penentuan ketinggian tempat tumbuh menggunakan alat GPS. Secara umum ketinggian tempat untuk penelitian dibagi menjadi 3 yaitu dataran rendah (<400 mdpl), dataran medium (400-700 mdpl) dan dataran tinggi (>700mdpl). Masing-masing ketinggian tempat akan menggunakan 2 dusun yang menjadi sentra produksi cengkih sebagai blok perlakuan. Setiap dusunnya akan dipilih lahan seorang petani cengkih untuk dijadikan sampel. Selain itu, lokasi untuk penelitian dipilih pada lereng yang sama dengan menggunakan kompas. Cengkih (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry.) merupakan salah satu komoditas hasil perkebunan di Indonesia yang memiliki nilai jual cukup tinggi. Kecamatan Samigaluh terkenal sebagai sentra produksi cengkih baik berupa bunga cengkih maupun minyak cengkih. Samigaluh merupakan satu dari dua kecamatan paling utara di kabupaten Kulon Progo. Wilayahnya terletak di daerah Pegunungan Menoreh dengan ketinggian antara 120–1.000 m di atas permukaan laut. Perbedaan geografis seperti perbedaan ketinggian tempat di atas permukaan laut (dpl) akan menimbulkan perbedaan cuaca dan iklim mikro secara keseluruhan pada tempat tersebut, terutama suhu dan kelembaban

(Andrian et al., 2014). Handoko (2005) cit. Wijayanto dan Nurunnajah (2012) menyatakan suhu di permukaan bumi makin rendah dengan bertambahnya lintang, seperti halnya penurunan suhu menurut ketinggian. Makin tinggi tempat maka suhunya makin rendah dan kelembaban akan makin tinggi.

Tanaman yang memiliki pengaruh ketinggian tempat tumbuh seperti tumbuhan jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) merupakan salah satu tumbuhan berbuah lokal Indonesia namun dilupakan oleh sebagian besar masyarakat Asia dan Australia tropik. Tumbuhan ini biasanya dapat ditemukan pada ketinggian 500 mdpl. Kurangnya pembudidayaan tumbuhan Jamblang menyebabkan tanaman ini mulai langka. Disisi lain, Jamblang memiliki banyak manfaat, hampir seluruh bagian tumbuhan tersebut telah diketahui kegunaannya secara tradisional. Secara tradisional jamblang memiliki khasiat sebagai karminatif, gangguan pencernaan, merangsang keluarnya air liur, diuretik, dan menghentikan batuk (Dalimartha S, 2003).

Keanekaragaman tumbuhan yang terdapat pada hutan berfungsi sebagai bahan pangan, sandang, papan, dan yang juga penting adalah penghasil oksigen dan pereduksi karbondioksida dari atmosfer, serta habitat fauna dan flora (Soerianegara, 1978). Keanekaragaman tumbuhan di suatu kawasan hutan relatif bervariasi dan sangat bergantung pada faktor iklim dan *edafik*. Keanekaragaman tumbuhan terutama pohon yang memiliki nilai ekonomis yang penting bagi masyarakat. Namun pada kenyataannya masyarakat yang berada disekitar kawasan, terkadang melakukan penebangan pohon secara sembarangan dan tidak terkendali untuk berbagai kepentingan ekonomi. Hal ini

menyebabkan terjadinya perubahan struktur dan komposisi vegetasi, yang berdampak terganggunya fungsi ekosistem hutan tersebut (Endawati, 2005).

Masyarakat pada umumnya merawat luka dengan menggunakan obat berbahan kimia, namun saat ini banyak dilakukan riset untuk mencari obat yang berasal dari alam karena lebih efektif dan efek samping yang lebih sedikit. Di Indonesia kaya akan tanaman-tanaman berkhasiat yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Mulai dari herba hingga tanaman yang berupa pohon. Daun salam (*Syzygium polyanthum (Wight) Walpers*). adalah salah satu tanaman yang memiliki daun yang sangat rimbun. Bagian daun paling banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional maupun sebagai campuran rempah pada masakan. Daun salam memiliki senyawa fitokimia yang terkandung di dalam daunnya antara lain saponin, triterpen, flavonoid, tanin, polifenol, dan alkaloid (Harismah dan Chusniatun, 2016). WHO pada tahun 2008 mencatat bahwa 68% penduduk dunia masih menggantungkan system pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tumbuhan untuk menyembuhkan penyakit dan lebih dari 80% penduduk dunia menggunakan obat herbal untuk mendukung kesehatan mereka (Saifudin dkk, 2011).

Tanaman salam tumbuh pada tanah dengan ketinggian 0-1500 m di atas permukaan laut dengan curah hujan 3.000-4.000 mm/tahun pada jenis tanah *latosol* kehitaman. Tanaman tersebut belum dibudidayakan secara besar-besaran, sebagian besar hanya tumbuh begitu saja tanpa pemeliharaan (Sembiring dkk, 2003).

Khasiat daun salam mengurangi dislipidemia, khususnya hipertriglisideridemia. Dapat menurunkan kadar LDL kolesterol serum, potensi menurunkan kadar asam urat dan menurunkan kadar glukosa darah pada pasien diabetes melitus Hardhani (2008). Kandungan daun salam mengandung tannin, minyak atsiri 0,2% (salamol dan eugenol), flavonoid (kuersetin, kuersitrin, mirsetin dan mirsitrin), seskuiterpen, triterpenoid, fenol, steroid, sitral, lakton, saponin, dan karbohidrat. Selain itu mengandung beberapa vitamin, di antaranya vitamin C, vitamin A, vitamin E, *thiamin*, *riboflavin*, *niacin*, vitamin B6, vitamin B12, dan folat. Menurut purwati (2004), daun salam oleh Badan POM ditetapkan sebagai salah satu dari Sembilan tanaman obat unggulan yang telah diteliti atau diuji secara klinis untuk menanggulangi masalah kesehatan tertentu (Fitri, 2007).

Lokasi asal tanaman bervariasi berdasarkan faktor eksternal, yaitu lingkungan (tanah dan atmosfer) dimana tumbuhan berinteraksi berupa energy (cuaca, temperatur, cahaya) dan materi (air, senyawa organik dan anorganik) (Anonim, 2000). Lingkungan tempat tumbuh tanaman sangat mempengaruhi kualitas dan keamanan bahan baku ekstrak dan produk akhir yang dihasilkan. Umumnya tanaman liar heterogen dari berbagai aspek misalnya kandungan metabolitnya secara kuantitatif (bahkan kualitatif yakni beberapa senyawa tidak terdeteksi), kemungkinan adanya pencemaran dan kontaminan yang berasal dari air dan tanah yang tidak terkontrol. Tanaman budidaya mungkin lebih bisa terkontrol berbagai aspek yang mengurangi mutu. Keseragaman genetik juga mempengaruhi kualitas dan kuantitas metabolit sekunder yang menghasilkan.

Faktor kimia mutu ekstrak dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tumbuhan obatnya, khususnya dilihat dari segi kandungan kimianya. Faktor kimia, baik untuk bahan dari tumbuhan obat hasil budidaya (*kultivar*) ataupun dari tumbuhan liar (*wild crop*) (Anonim, 2000 dan Saifudin dkk., 2011).

Berdasarkan hal tersebut daun salam berpotensi untuk dikembangkan sebagai pengawet makanan alami karena kemampuannya dalam mencegah kerusakan oksidatif pada makanan. Daun salam jauh lebih aman dikonsumsi karena sudah biasa dipakai sebagai bumbu penyedap masakan. Hal-hal tersebut yang menjadi dasar untuk melakukan penelitian tentang aplikasi ekstrak daun salam pengobatan secara herbal.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah ketinggian tempat tumbuh yang berbeda dapat berpengaruh pada profil kandungan kimia bagian daun dari tanaman salam (*Syzygium polyanthum* Wight) asal Sulawesi selatan.

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui pengaruh ketinggian tempat tumbuh terhadap profil kandungan kimia bagian daun dari tanaman salam (*Syzygium polyanthum*) asal Sulawesi selatan.

## BAB II

### TUJUAN PUSTAKA

#### II.1 Daun Salam



**Gambar 1. Tanaman daun salam (*Syzygium polyanthum*) (a), bunga daun salam (*Syzygium polyanthum*) (b) dan, buah daun salam (*Syzygium polyanthum*) (c) (Sumber : koleksi sendiri).**

Tinggi pohon mencapai 25 m, batang bulat, permukaan licin, bertajuk rimbun dan berakar tunggang. Daun salam berupa warna kecoklatan, bau aromatik lemah, rasa kelat. Daun tunggal bertangkai pendek, panjang tangkai daun 5-10 mm. helai daun berbentuk jorong memanjang, panjang 7-15 cm, ujung daun dan pangkal daun meruncing, tepi rata, permukaan atas berwarna coklat kehijauan, licin, mengkilat, permukaan bawah berwarna coklat tua, tulang daun menyirip, dan menonjol pada permukaan bawah dan tulang cabang halus. Bunga majemuk tersusun dalam malai yang keluar dari ujung ranting, berwarna putih, baunya harum, Biji bulat, diameter sekitar 1 cm berwarna coklat. Buahnya buah buni, bulat berdiameter 8-9 mm, buah muda berwarna

hijau, setelah masak menjadi merah gelap, rasa agak sepat (Depkes RI, 2008; Dalimartha, 2000). Tanaman daun salam bagian daun, bunga dan buah salam dapat dilihat pada gambar diatas.

### **II.1.1 Klasifikasi Daun Salam**

Klasifikasi dari tanaman daun salam ( *Syzygium polyanthum* [Wight] Walp ).(Dalimartha, 2016):

Kingdom : Plantae

Super Sivisi : Spermatophyta

Class : Dicotiledoneae

Ordo : Myrtales

Familia : Myrtaceae

Genus : Syzygium

Species : ( *Syzygium polyanthum* [Wight] Walp ).

### **II.1.2 Morfologi Daun Salam**

Daun salam merupakan tumbuhan pohon bertajuk rimbun, tinggi mencapai 25 meter. Daunnya bila diremas berbau harum, berbentuk lonjong sampai elips atau bulat telur sungsang, pangkal lancip, ujung lancip sampai tumpul, panjang 5-15 cm, lebar 35-36 mm, terdapat 6-10 urat daun lateral, pangkal daun 5-12 mm. Perbungaan berupa malai, keluar dari ranting, berbau harum. Kelopak bunga berbentuk cangkir yang lebar, ukurannya lebih kurang 1 mm. Mahkota bunga berwarna putih, panjang 2,5-3,5 mm, benang sari terbagi dalam empat kelompok, panjang 3 mm, berwarna kuning lembayung. Buah buni berwarna merah gelap, berbentuk bulat dengan garis tengah 8-9 mm (Syamsul



dan Rodame, 2015).

### **II.1.3 Kandungan Kimia Daun Salam**

Kandungan tanaman daun salam antara lain adalah fenol, kuinon, flavonoid, tanin, kumarin, terpenoid, minyak atsiri, lektin, polipeptida, alkaloid, poliamida, *isothiocyanate*, thiosulfinat, glukosida dan poliasetilena (Hakim dan ferisa, 2016). Daun salam mempunyai kandungan kimia yaitu tanin, flavonoid, dan minyak atsiri 0,05% (Tiara, 2016).

### **II.1.4 Khasiat Daun Salam**

Daun salam digunakan untuk pengobatan kolestrol tinggi, kencing manis (*diabetes mellitus*), tekanan darah tinggi (hipertensi), sakit maag (gastritis) diare dan menurunkan berat badan. Buah digunakan mengatasi mabuk alkohol (Dalimartha, 2018).

## **II.2 Metode Ekstraksi**

### **II.2.1 Definisi Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Ekstraksi padat-cair atau *leaching* merupakan proses perpindahan secara difusi analit dari sampel yang berwujud padat ke dalam pelarutnya. Ekstraksi dari sampel padatan dapat dilakukan jika analit yang diinginkan dapat larut dalam pelarut pengekstraksi (Leba, 2017).

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai,

hampir semua pelarut diuapkan (Dirjen POM, 2000).

Faktor biologi yang mempengaruhi mutu ekstrak meliputi beberapa hal yaitu (Dirjen POM, 2000):

- a. Identitas jenis (spesies): jenis tumbuhan dari sudut keragaman hayati dapat dikonfirmasi sampai informasi genetik sebagai faktor internal untuk validasi jenis (spesies).
- b. Lokasi tumbuhan asal: lokasi berarti faktor eksternal yaitu lingkungan (tanah dan atmosfer) dimana tumbuhan berinteraksi berupa energi (cuaca, temperatur, cahaya), dan material (air, senyawa organik, dan anorganik).
- c. Periode pemanenan hasil tumbuhan.
- d. Penyimpanan bahan tumbuhan
- e. Umur tumbuhan dan bagian yang digunakan.

Selain kelima faktor tersebut untuk bahan tumbuhan dari hasil budaya ada lagi faktor GAP (*Good Agriculture Practice*) sedangkan untuk bahan dari tumbuhan liar (*wild crop*) ada faktor kondisi proses pengeringan yang umumnya dilakukan di lapangan (Dirjen POM, 2000).

Sedangkan faktor kimia baik untuk bahan dari tumbuhan liar maupun dari tumbuhan obat hasil budidaya meliputi beberapa hal, yaitu (Dirjen POM, 2000):

- Faktor internal meliputi jenis senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, komposisi kualitatif senyawa aktif dan kadar total rata-rata senyawa aktif.
- Faktor eksternal meliputi metode ekstraksi, perbandingan ukuran alat

ekstraksi, ukuran kekerasan, dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan, kandungan logam berat, kandungan pestisida.

### **II.2.2 Tujuan Ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel secara osmosis yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara didalam dan diluar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif didalam dan diluar sel (Dirjen POM, 2000).

Tujuan utama dari proses ekstraksi berkaitan dengan satu atau lebih dari sifat berikut (Haeria, 2014):

- a. Hasil ekstraksi yang tinggi: senyawa target diperoleh secara tuntas atau hampir tuntas.
- b. Kemurnian yang tinggi (selektivitas): ekstrak yang dihasilkan memiliki bahan pengganggu atau bahan yang tidak diinginkan dalam jumlah yang rendah.
- c. Sensitivitas yang tinggi: ekstrak yang dihasilkan memungkinkan untuk dikuantifikasi dengan teknik yang berbeda dengan menghasilkan linearitas yang tinggi dalam kurva kalibrasi.

- d. Batas deteksi rendah (kuantifikasi): komponen dalam ekstrak dapat dideteksi/diukur pada tingkat rendah karena tingkat *noise* (gangguan analisis) yang rendah dapat diperoleh dalam sistem analitis.

### **II.2.2 Metode Ekstraksi**

Metode ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan secara dingin yaitu maserasi dan perkolasi, dan secara panas yaitu refluks, soxhlet, digesti, infus, dan dekok (Dirjen POM, 2000).

Ada beberapa metode ekstraksi menurut Dirjen POM yaitu:

- a. Cara dingin

- 1) Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Proses ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan didalam dan diluar sel. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, metanol, etanol-air atau pelarut lainnya. Remaserasi berarti dilakukan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana yang mudah diusahakan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

## 2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan. Menurut Mukhriani (2014) pada metode perkolasi, serbuk sampel yang dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

### b. Cara panas

#### 1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna. Menurut Mukhriani (2014) bahwa pada metode refluks, sampel dimasukkan bersama pelarut kedalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali

kedalam labu.

## 2) Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya digunakan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Menurut Mukhriani (2014) pada metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur dibawah suhu refluks. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

## 3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

## 4) Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 86-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

## 5) Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ( $\geq 30^{\circ}\text{C}$ ) dan temperatur sampai titik didih air.

### **II.3 Uraian Flavonoid**

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya.

Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, sebagai zat antimikroba, antivirus dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respons terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungi penyerangnya.

Telah banyak flavonoid yang diketahui memberikan efek fisiologis tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Penelitian terus dilakukan untuk mengetahui berbagai manfaat yang bisa diperoleh dari senyawa flavonoid. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon yang membentuk susunan  $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$ . Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1-2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1,-

diarilpropan atau neoflavonoid.

Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Kuersetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari *Low Density Lipoproteins* (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat ion logam transisi. Ketika flavonol kuersetin bereaksi dengan radikal bebas, kuersetin mendonorkan protonnya dan menjadi senyawa radikal (Sutir, 2012). Kuersetin seringkali terdapat dalam jumlah substansial dalam jaringan tanaman, sebagai antioksidan kuat, penghelat logam, peredam radikal, dan mencegah oksidasi dari lipoprotein densitas rendah (Haeria, 2014).

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis. Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak yang dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya. Absorbansi sebagai analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum *Lambert-Beer*. Absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam suatu tanaman juga semakin

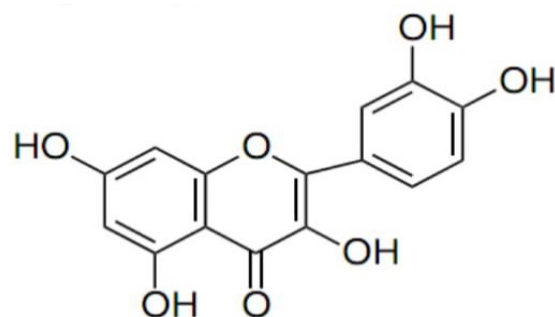


tinggi (Neldawati, 2013). Menurut Dirjen POM (2014), range nilai absorbansi yang baik yaitu berkisar antara 0,2-0,8 di daerah ultraviolet atau cahaya tampak.

Kadar flavonoid didalam suatu tanaman berbeda-beda diantara setiap bagian, jaringan, dan umur tanaman, serta dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan. Faktor-faktor ini adalah temperatur, sinar ultraviolet dan tampak, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar CO<sub>2</sub> pada atmosfer (Neldawati, 2013).

#### II.4 Kuersetin

Kuersetin dikategorikan sebagai flavonol, salah satu dari enam subclass senyawa flavonoid. *The International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) menyebutkan nomenklatur untuk kuersetin adalah 3,3',4',5,7-*pentahydroxyflavanone*. Kuersetin adalah aglikon. Aglikon adalah komponen bukan gula sedangkan glikon adalah komponen gula. Berbagai flavonol dibuat oleh penempatan diferensial kelompok fenolik-OH dan gula (glikon). Semua flavonol, termasuk kuersetin memiliki kesamaan yaitu 3-*hydroxyflavone* (Kelly, 2011). Rumus struktur dan padatan dari kuersetin ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur kimia kuersetin (Kelly, 2011)

#### II.5 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan analisa kimia kuantitatif didalam kimia analisis dengan mengukur berapa jauh energi radiasi yang diserap oleh

absorbansi terisolasi suatu panjang gelombang. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum 27 jenis dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi yang relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 2010).

Spektrofotometri UV-Visible adalah salah satu teknik yang paling sering digunakan dalam analisis farmasi. Hal ini melibatkan pengukuran jumlah radiasi ultraviolet atau zat yang diserap dalam larutan. Instrumen yang mengukur rasio, atau fungsi dari rasio, intensitas dua berkas cahaya di daerah UV-Visible disebut spektrofotometri *Ultraviolet-Visible* (Behera, 2012).

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm. Komponen-komponennya meliputi sumber-sumber sinar, monokromator, dan sistem optik (Ganjar I.G, dan Rohman, 2010).

Setiap gugus kromofor menyerap cahaya UV pada panjang gelombang yang spesifik tergantung substituen yang diikatnya dan tambahan konjugasi ikatan rangkap pada molekul bersangkutan. Analog dengan spektroskopi UV maka spektroskopi Vis adalah untuk analisa senyawa yang berwarna. Secara kuantitatif, maka kedua jenis spektroskopi ini juga dapat digunakan karena jumlah sinar yang diserap sebanding dengan konsentrasi senyawa yang penyerap secara empiris konsentrasi ditentukan dengan persamaan *Lambert-*

*Beer* (Sitorus, 2010).

Apabila radiasi atau cahaya putih dilewatkan melalui larutan berwarna, maka radiasi dengan panjang gelombang tertentu akan diserap (absorpsi) secara selektif dan radiasi lainnya akan diteruskan (transmisi). Absorbansi adalah perbandingan intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar datang. Nilai absorbansi ini akan bergantung pada kadar zat yang terkandung didalamnya, semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga nilai absorbansi semakin besar atau dengan kata lain nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung didalam suatu sampel (Neldawati, 2013).

Jika suatu molekul bergerak dari suatu tingkat energi ke tingkat energi yang lebih rendah maka beberapa energi akan dilepas. Energi ini dapat hilang sebagai radiasi dan dapat dikatakan telah terjadi emisi radiasi. Jika suatu molekul dikenai suatu radiasi elektromagnetik pada frekuensi yang sesuai sehingga energi molekul tersebut ditingkatkan ke level yang lebih tinggi, maka terjadi peristiwa penyerapan (absorpsi) energi oleh molekul (Neldawati, 2013).

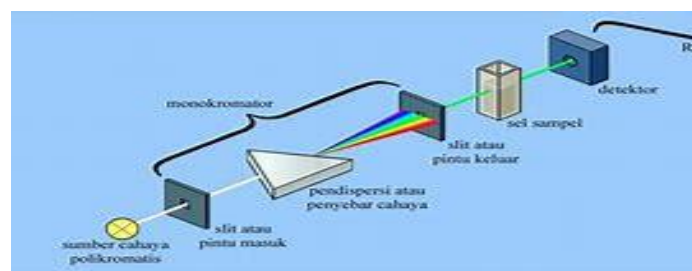
Spektrum UV-Vis yang merupakan korelasi antara absorbansi (sebagai ordinat) dan panjang gelombang (sebagai absis) bukan merupakan garis spektrum akan tetapi merupakan suatu pita spektrum. Terbentuknya pita spektrum UV-Vis tersebut disebabkan oleh terjadinya eksitasi elektronik lebih dari satu macam pada gugus molekul yang sangat kompleks (Sudjadi, 2012).

Kadar flavonoid dalam sampel herbal dapat ditentukan dengan berbagai

metode. Metode yang diakui oleh Departemen Agama RI adalah spektrofotometri UV yang berdasar pada prinsip kolorimetri. Absorbansi dari warna yang terbentuk diukur dengan spektrometer UV. Kadar kuersetin dihitung sebagai kadar flavonoid total dalam sampel. Perhitungan ini berdasarkan pada hukum *lambert-Beer* yang menunjukkan hubungan lurus antara absorbansi dan kadar analisis (Neldawati, 2013).

Analisis kadar flavonoid merupakan pengukuran total flavonoid yang terkandung dalam sampel. Analisis kadar flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis menggunakan aluminium klorida ( $AlCl_3$ ), natrium asetat, standar yang digunakan adalah kuersetin. Kuersetin merupakan salah satu jenis flavonoid yang umum digunakan sebagai standar dalam penentuan kadar flavonoid, yang secara biologis amat kuat, memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Pakaya, 2015) dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-70% dari flavonoid (Kelly, 2011).

Instrumen yang digunakan untuk mempelajari serapan atau emisis radiasi elektromagnetik sebagai fungsi dari panjang gelombang disebut spektrometer atau spektrofotometer. Pada umumnya konfigurasi dasar dari spektrofotometer UV-Vis berupa susunan peralatan adalah sebagai berikut:



**Gambar 3. Bagian Instrumen Spektrofotometer UV-Vis Instrumentasi UV-Vis (Hamzah, 2013)**

Sumber radiasi Monokromator wadah Sampel Detektor Rekorder (Guandjar, 2012)

a. Sumber cahaya

Spektrofotometer membutuhkan sumber cahaya. sumber yang biasa digunakan pada spektroskopi absorpsi adalah lampu wolfram. Arus cahaya tergantung pada tegangan lampu. Lebih dari satu jenis sumber cahaya dapat digunakan dalam satu instrumen yang sama dan dapat secara otomatis menukar lampu saat memindai antara daerah UV dan Vesibel menurut : Guandjar (2012):

- 1) Untuk daerah sinar tampak, menggunakan lampu pijar yang dilengkapi dengan filamen tungsten dan ditempatkan dalam gelas silica.
- 2) Untuk daerah UV lampu busur deuterium (*Deuterium Arc Lamp*) bekerja pada tekanan rendah untuk mempertahankan emisi kontinu ( $< 350$  nm).
- 3) Alternatif untuk seluruh daerah 200-1100 nm, lampu busur xenon (*Xenon Arc Lamp*) dapat digunakan untuk pekerjaan rutin.

Menurut Guandjar (2012) sumber sinar atau lampu pada kenyataannya merupakan 2 lampu yang terpisah, yang secara bersama-sama mampu menjangkau keseluruhan daerah spektrum ultraviolet dan tampak. Untuk sinar tampak digunakan lampu tungsten. Lampu ini terbuat dari logam tungsten. Lampu tungsten mengemisikan sinar pada panjang gelombang 350-2000 nm, karenanya cocok untuk kolorimetri.

Untuk senyawa-senyawa yang menyerap di spektrum daerah ultraviolet, digunakan lampu deuterium. Deuterium merupakan salah satu isotop hidrogen, yang mempunyai satu neutron lebih banyak dibanding hidrogen biasa dalam inti

atomnya. Suatu lampu deuterium merupakan sumber energi tinggi yang mengemisikan sinar pada panjang gelombang 200-370 nm dan digunakan untuk semua spektroskopi dalam daerah spektrum ultraviolet (Guandjar, 2012).

#### b. Monokromator

Monokromator digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis. Alatnya dapat berupa prisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian. Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis.

1) Cahaya yang diemisikan oleh sumber cahaya yang didispersikan melalui sebuah sisi planar atau cekung yang merupakan bagian dari perangkat monokromator. Perangkat ini memungkinkan ekstraksi spektrum emisi menghasilkan sinar dengan interval yang sempit. Panjang gelombang atau lebih tepatnya lebar pita spektrum, sesuai dengan lebar celah (slit), dapat bervariasi secara bertahap dengan memutar kisi-kisi. Jalur optik dengan panjang fokus yang besar (0,2 sampai 0,5 m) akan menghasilkan resolusi terbaik (Guandjar, 2012).

2) Instrumen simultan Kategori ini memiliki fungsi sesuai dengan prinsip spektograf. Sinar terdifraksi setelah melalui sel pengukuran. Pada kebanyakan pengukuran kuantitatif, sinar harus bersifat monokromatik, yakni sinar dengan satu panjang gelombang tertentu. Hal ini dicapai dengan melewatkan sinar polikromatik (yakni sinar dengan beberapa panjang gelombang) melalui suatu monokromator. Terdapat dua jenis monokromator dalam spektrofotometer

modern, yaitu *prisma* dan *kisi difraksi*. Prisma merupakan suatu lempeng kuarsa yang membiaskan (membelokkan) sinar yang melaluinya. Banyaknya pembiasan tergantung pada panjang gelombang sinar, dengan demikian sinar putih dapat terpecah kedalam warna penyusun-penyusunnya melalui suatu prisma. Prisma selanjutnya berputar untuk memilih panjang gelombang tertentu yang diperlukan untuk pengujian. Pengaruh ini identik dengan pembentukan pelangi jika sinar dari cahaya matahari terpecah kedalam 7 komponen warnanya (merah, jingga, kuning, hijau, biru, nila, dan violet) melalui pembiasan tetesan-tetesan air hujan (Guandjar, 2012).

Suatu kisi difraksi merupakan kepingan kecil gelas bercermin yang didalamnya terdapat sejumlah garis yang berjarak sama yang terpotong-potong, beberapa ribu per millimeter kisi, untuk memberikan struktur yang nampak seperti suatu sisir kecil. Jarak antar potongan kurang lebih sama dengan panjang gelombang sinar sehingga berkas sinar monokromatik akan terpisah kedalam komponen-komponen panjang gelombangnya oleh suatu kisi. Kisi selanjutnya diputar untuk memilih panjang gelombang yang diinginkan dalam pengujian (Guandjar, 2012: 82).

### c. Detektor

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang. Detektor mengubah intensitas cahaya menjadi sinyal listrik, merupakan sifat umum perangkat detektor dengan saluran tunggal. Dua jenis detektor yang sering digunakan, tabung photomultiplier dan semikonduktor (perangkat transfer muatan atau fotodiode

silikon). Keduanya memiliki sensitivitas yang baik, tergantung pada panjang gelombang yang dideteksi.

Setelah sinar melalui sampel, maka penurunan intensitas apapun yang disebabkan oleh absorpsi diukur dengan suatu detektor. Detektor biasanya kepingan elektronik yang disebut dengan tabung pengganda foton, yang beraksi untuk mengubah intensitas berkas sinar kedalam sinyal elektrik yang dapat diukur dengan mudah, dan juga beraksi sebagai suatu pengganda (*amplifier*) untuk meningkatkan kekuatan sinyal. Sinar masuk ke tabung dan mengenai katoda, hal ini akan melepaskan elektron, yang akan tertarik pada suatu anoda. Ketika elektron menyerang/mengenaikan anoda ini maka akan melepaskan beberapa elektron, yang tentunya akan tertarik pada anoda di atas, yang mana proses ini akan terulang. Dalam cara ini, suatu aliran elektron dihasilkan dan sinyal dikuatkan/diamplifikasi (Guandjar, 2012).

Begitu sinyal elektrik meninggalkan tabung pengganda foton, maka sinyal elektrik tersebut akan menuju perekam untuk menampilkan spektrum serapannya. Kebanyakan spektrofotometer modern saat dihubungkan dengan komputer sehingga dimungkinkan penyimpanan sejumlah data (Guandjar, 2012).

Kalibrasi spektrofotometer UV-Vis, monograf Farmakope biasanya mendasarkan pada nilai standar untuk menghitung kadar suatu obat dalam suatu formulasi menggunakan spektrofotometer. Spektrofotometer yang digunakan untuk pengukuran harus dikalibrasi dengan baik terhadap skala panjang gelombang dan absorbansinya. Demikian juga, untuk kalibrasi suatu



instrumen dilakukan pengecekan terhadap resolusi spektra dan adanya penyesatan sinar (*shop radiation*) (Guandjar, 2012).

Prinsip spektrofotometri UV-Vis dengan radiasi pada rentang panjang gelombang 200-800 nm dilewatkan melalui suatu larutan senyawa. Elektron-elektron pada ikatan didalam molekul menjadi tereksitasi sehingga menempati keadaan kuantum yang lebih tinggi dan dalam proses menjerap sejumlah energi yang melewati larutan tersebut. Semakin longgar elektron tersebut ditahan dalam ikatan molekul, semakin panjang gelombang (energi lebih rendah) radiasi yang diserap (David, 2010).

## **II.6 Kromatografi Lapis Tipis**

Dalam paper awalnya (1906), Tswett menyatakan bahwa “kromatografi adalah suatu metode yang mana komponen -komponen dalam campuran dipisahkan dalam suatu kolom penjerap dalam system yang mengalir” (Abdul Rohman 2020).

Kromatografi, suatu proses yang komponen-komponen di dalam suatu campuran dapat dipisahkan, telah menjadi salah satu metode analisis yang utama untuk identifikasi (analisis kualitatif) dan analisis kuantitatif senyawa-senyawa obat. Prinsip dasarnya pada kesetimbangan konsentrasi komponen-komponen yang dituju, antara 2 fase yang tidak saling campur. Fase pertama disebut dengan *fase diam* karena tidak bergerak di dalam suatu kolom atau diikatkan dalam suatu pendukung, sedangkan fase yang kedua disebut dengan *fase gerak* karena fase gerak didorong melalui fase diam. “kromatografi adalah metode pemisahan secara fisika yang mana komponen-komponen yang akan

dipisahkan terbagi di antara dua fase, yang satu adalah fase diam sementara yang lain adalah fase gerak yang bergerak pada arah tertentu”(Abdul Rohman 2020).

Pemisahan pada kromatografi ini dihentikan sebelum semua fase gerak melewati seluruh permukaan fase diam. Solut dikarakterisasi dengan jarak migrasi solut terhadap jarak ujung fase geraknya yang diistilahkan dengan faktor retardasi solut (Rf) yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Nilai Rf terbaik adalah 0,2 – 0,8 untuk deteksi UV dan 0,2 – 0,9 untuk deteksi visibel (Wulandari, 2011; Gandjar and Rohman, 2017). Bercak yang dihasilkan pada KLT umumnya bercak yang tidak berwarna. Untuk menampakkan bercak secara fisika dengan fluoresensi sinar ultraviolet dengan menggunakan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Sedangkan secara kimiawi dengan menyemprot lempeng dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi dengan gugus fungsional dalam analit sehingga bercak menjadi berwarna (Gandjar and Rohman, 2017).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah suatu teknik yang sederhana yang banyak digunakan, metode ini menggunakan lempeng kaca atau lembaran plastik yang ditutupi penyerap atau lapisan tipis dan kering. Untuk menotolkan larutan cuplikan pada lempeng kaca, pada dasarnya menggunakan mikro pipet atau pipa kapiler. Selain itu, bagian bawah dari lempeng dicelup dalam larutan pengelusi di dalam wadah yang tertutup (Soebagio, 2002).

Prinsip dari metode KLT adalah sampel ditotolkan pada lapisan tipis (fase diam) kemudian dimasukkan kedalam wadah yang berisi fase gerak (eluen) sehingga sampel tersebut terpisah menjadi komponen- komponennya. Salah satu fase diam yang paling umum digunakan adalah silika gel  $F_{254}$  yang mengandung indikator flourosensi ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tanpa warna pada lapisan yang dikembangkan. Fase gerak terdiri dari satu atau beberapa pelarut (dengan perbandingan volume total 100) yang akan membawa senyawa yang mempunyai sifat yang sama dengan pelarut tersebut (Gritter, dkk., 1991; Stahl, 1985; Nyireddy, 2002).

Pertimbangan untuk pemilihan pelarut pengembang (eluen) umumnya sama dengan pemilihan eluen untuk kromatografi kolom. Dalam kromatografi adsorpsi, pengelusi eluen naik sejalan dengan pelarut (misalnya dari heksana ke aseton, ke alkohol, ke air). Eluen pengembang dapat berupa pelarut tunggal dan campuran pelarut dengan susunan tertentu. Pelarut-pelarut pengembang harus mempunyai kemurnian yang tinggi. Terdapatnya sejumlah air atau zat pengotor lainnya dapat menghasilkan kromatogram yang tidak diharapkan, maka eluen pengembang yang digunakan harus memiliki potensi baik untuk memisahkan senyawa- senyawa aktif (Soebagio, 2002).

Adapun hasil identifikasi KLT menunjukkan pemisahan yang baik dengan munculnya bentuk spot yang jelas, tidak berekor, dan resolusinya > 1,25. Menurut Wonorahardjo (2013) bahwa nilai resolusi yang tinggi menunjukkan kesempurnaan keterpisahan antara dua buah puncak kromatogram (spot) dengan nilai  $R_s$  mendekati 1,25 atau lebih dari 1,25

memberikan hasil pemisahan 2 spot yang sangat baik dan kecil kemungkinan terjadinya tumpang tindih senyawa.

Reich dan Shibli (2006) *dalam* Fatahillah (2016) mengatakan bahwa senyawa yang stabil adalah tidak menghilangnya noda yang sama pada dimensi pertama dan kedua. Stabilitas suatu senyawa dapat ditentukan dengan tingkat presisi yaitu dengan cara mencermati pola sidik jari (noda), sebagaimana menurut (Reich dan Schibli, 2006 dalam Fatahillah, 2016) bahwa hasil dapat diterima jika pola sidik jari identik terkait dengan jumlah, letak, warna, dan syarat keberterimaan simpangan baku (intraplat) tidak lebih dari 0,02 dan simpangan baku (interplat) tidak lebih dari 0,05. Secara visual presisi semakin baik jika pola yang terlihat mendekati garis lurus. Simpangan baku adalah nilai yang menunjukkan tingkat (derajat) variasi kelompok data dari meannya (rata-rata) (Setiawan, 2008).